This Page Is Inserted by IFW Operations and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents will not correct images, please do not report the images to the Image Problem Mailbox.



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number:

(43) Date of publication of application: 05.10.1993

(51)Int.CI.

C12N 11/12 C12N 11/04 G01N 27/327 G01N 27/416 G01N 27/49 G01N 33/18

(21)Application number: 04-053804

(71)Applicant:

NAKANO VINEGAR CO LTD

(22)Date of filing:

12.03.1992

(72)Inventor:

SATO TAKESHI

KATOU NAHO AKANO HIROFUMI KAWAMURA KICHIYA

(54) FIXATION OF MICROORGANISM, FIXED MICROORGANISMIC MEMBRANE, MEASUREMENT OF BOD OR SULFINIC ACID AND MEASURING EQUIPMENT THEREFOR

PURPOSE: To obtain a fixed microorganismic membrane having sufficient response, sufficient sensitivity, stability and durability, and useful as a biological device, etc., of a sulfuric acid detector by fixing a microorganism to a hydrophilic porous membrane having a specified average pore diameter using a gelling agent. CONSTITUTION: Microorganisms are fixed to a hydrophilic porous membrane (e.g. membrane made of acetylcellulose for membrane filtration) having 0.65 to 3μm average pore diameter by using a gelling agent (Alginic acid, agar-agar, etc., are preferably used). Specifically, washed microorganismic cells are mixed with a gelling agent solution and the resultant microorganism-containing gelling agent solution is dropped on the porous membrane. The porous membrane is then sucked from its back surface or pressurized from the upper side so as to infiltrate the above-mentioned solution into the holes of the porous membrane. Thereby, the microorganisms are fixed together with the gelling agent.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

17.02.1998

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of

rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

3016529

[Date of registration]

24.12.1999

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2000 Japanese Patent Office

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-252952

(43)公開日 平成5年(1993)10月5日

C12N 11/12 11/04 7235-2 J	(51)Int.Cl.5	識別記号	庁内整理番号	FI	技術表示協所
COIN 27/327 7235-2 J COIN 27/30 355 7235-2 J 27/46 301 N 審査請求 未請求 請求項の数4(全 7 頁) 最終頁に続く (21)出願番号 特願平4-53804 (71)出願人 390022644 (22)出願日 平成4年(1992)3月12日 (72)発明者 佐藤 昼 岐阜県土岐市泉町久尻561-17 (72)発明者 加藤 奈穂 愛知県知多郡阿久比町大字福住申田26-15 (72)発明者 計析 吉也 愛知県平田市有脇町2-46-28 (72)発明者 川村 吉也 愛知県江南市古知野町古渡132					
T235-2 J		y.			
27/46 301 N 審査請求 未請求 請求項の数4(全 7 頁) 最終頁に続く (21)出願番号 特願平4-53804 (71)出願人 390022644 株式会社中埜酢店 要知県半田市中村町2丁目6番地 (72)発明者 佐藤 猛 岐阜県土岐市泉町久尻561-17 (72)発明者 加藤 奈穂 要知県知多郡阿久比町大字福住申田26-15 (72)発明者 赤野 裕文 要知県半田市有脇町2-46-28 (72)発明者 川村 吉也 要知県江南市古知野町古渡132	G01N 27/321	*	7235—2 [G 0 1 N	27/30 3 5 5
審査請求 未請求 請求項の数 4 (全 7 頁) 最終頁に続く (21)出願番号 特願平4-53804 (71)出願人 390022644 株式会社中埜酢店 愛知県半田市中村町 2 丁目 6 番地 (72)発明者 佐藤 猛 岐阜県土岐市泉町久尻561-17 (72)発明者 加藤 奈穂 愛知県知多郡阿久比町大字福住申田26-15 (72)発明者 赤野 裕文 愛知県半田市有脇町 2 -46-28 (72)発明者 川村 吉也 愛知県江南市古知野町古渡132			-	G • • • •	
株式会社中埜酢店 愛知県半田市中村町2丁目6番地 (72)発明者 佐藤 猛 岐阜県土岐市泉町久尻561-17 (72)発明者 加藤 奈穂 愛知県知多郡阿久比町大字福住申田26-15 (72)発明者 赤野 裕文 愛知県半田市有脇町2-46-28 (72)発明者 川村 吉也 愛知県江南市古知野町古渡132			1200 23	審查請求 未請求	
(22)出願日 平成 4年(1992) 3月12日	(21)出顧番号	特頭平4-53804		(71)出願人	390022644
(72)発明者 佐藤 猛	(31/114811117	11121			·
(72)発明者 佐藤 猛	(22)出顧日	平成 4年(1992)3	月12日	1	愛知県半田市中村町2丁目6番地
(72)発明者 加藤 奈穂 愛知県知多郡阿久比町大字福住申田26-15 (72)発明者 赤野 裕文 愛知県半田市有脇町2-46-28 (72)発明者 川村 吉也 愛知県江南市古知野町古渡132	(-, -, -, -, -, -, -, -, -, -, -, -, -, -			(72)発明者	
愛知県知多郡阿久比町大字福住申田26-15 (72)発明者 赤野 裕文 愛知県半田市有脇町2-46-28 (72)発明者 川村 吉也 愛知県江南市古知野町古渡132					
(72)発明者 赤野 裕文 愛知県半田市有脇町 2 -46-28 (72)発明者 川村 吉也 愛知県江南市古知野町古渡132				(72)発明者	,
愛知県半田市有脇町 2 -46-28 (72)発明者 川村 吉也 愛知県江南市古知野町古渡132					
(72)発明者 川村 吉也 愛知県江南市古知野町古渡132				(72)発明者	
愛知県江南市古知野町古渡132					
				(72)発明者	
(74)代理人 弁理士 平木 祐輔 (外2名)					
				(74)代理人	弁理士 平木 祐輔 (外2名)

(54)【発明の名称】 微生物の固定化法、微生物の固定化膜、並びにBOD又は 生及び測定装置 亜硫酸の測定方

(57)【要約】

【構成】 平均細孔径が0.65μm 以上3μm 以下である 親水性の多孔質膜の中に微生物をゲル化材で固定化する ことを特徴とする微生物固定化方法、当該方法でえられ た微生物固定化膜、当該微生物固定化膜をBOD測定又 は亜硫酸測定の生体素子として使用することを特徴とす るBOD測定又は亜硫酸測定方法及び生体素子が前記微 生物固定化膜であるBOD又は亜硫酸測定装置。

【効果】 本発明の方法により得られる微生物固定化膜は、これをBOD又は亜硫酸の測定に使用したとき感度、応答性、安定性、耐久性において優れた効果を示した。

1

【特許請求の範囲】

【請求項 L】 平均細孔径が0.65μm 以上 3 μm 以下である親水性の多孔質膜の中に微生物をゲル化材で固定化することを特徴とする微生物固定化方法。

【請求項2】 平均細孔径が0.65μm以上3μm以下である親水性の多孔質膜の中に微生物をゲル化材で固定化した微生物固定化膜。

【請求項3】 請求項第2項記載の微生物固定化膜をBOD測定又は亜硫酸測定の生体素子として使用することを特徴とするBOD測定又は亜硫酸測定方法。

【請求項4】 生体素子が請求項第2項記載の微生物固定化膜であるBOD又は亜硫酸測定装置。

【発明の詳細な説明】

[0001]

【産業上の利用分野】本発明は微生物の固定化法、微生物の固定化膜、並びにBOD又は亜硫酸の測定方法及び測定装置に関する。

[0002]

【従来の技術】従来、微生物固定化膜の製造法に関しては、種々の方法が開発されており、例えば(1) 微生物をコラーゲンやポリアクリルアミドなどの高分子固定化用担体で固定化、製膜する方法(特公昭58-30537号公報)

、また(2) 多孔質板を微生物の生息している液中に浸 漬するかまたは、微生物の生息している液を強制的に多 孔質板に流通させて、多孔質板の微細孔内に微生物を生 息させる方法(特公昭57-15696号公银)などが知られて いる。

【0003】しかし、上記(1) においては厚さの均一な 薄膜を製造する操作が難しく薄膜の品質を常に一定に保 つことが困難であるという問題点があった。また、(2) の方法においては、多孔質板中の微細孔内に生息する微 生物が測定中に脱離するなどして菌数が安定せず応答と 感度が不安定になるという問題点を有していた。

[0004]

)

【発明が解決しようとする課題】そこで、本発明者らは 充分な応答性、感度、安定性、耐久性を兼ね備えた微生 物固定化膜の開発を目的として鋭意研究を重ねた結果、 本発明を完成するに至った。

[0005]

【課題を解決するための手段】すなわち、本発明は、平均細孔径が0.65μm以上3μm以下である親水性の多孔質膜の中に微生物をゲル化材で固定化することを特徴とする微生物固定化方法、平均細孔径が0.65μm以上3μm以下である親水性の多孔質膜の中に微生物をゲル化材で固定化した微生物固定化膜、該微生物固定化膜をBOD測定又は亜硫酸測定の生体素子として使用することを特徴とするBOD測定又は亜硫酸測定方法、及び生体素子が前記微生物固定化膜であるBOD又は亜硫酸測定装置である。

【0006】以下に本発明を詳細に説明する。本発明に

使用することのできる固定化用支持体、即ち多孔質膜としては酸素、亜硫酸、各種有機化合物、各種無機化合物などを溶液状またはガス状で自由に通過せしめる観水性の多孔質膜であればいずれでも良く、例えばメンブラン

遠過膜や非対称限外遠過膜等を使用することができる。
材質はニトロセルロース、アセチルセルロースなどのセルロースエステル化合物や親水化ボリ沸化ビニリデン、ボリエーテルスルホン等が使用できる。尚、本発明で使用する親水性の多孔質膜は、生体素子として用いる際、

10 応答性を向上させるために使用する電極表面に該多孔質 膜を完全に密着させることが必要であり、従って柔軟性 があり、該電極表面の形状に合わせることのできる素材 よりなる多孔質膜を使用することが必要である。

【0007】また本発明の多孔質膜は、目的とする微生物をその多孔質構造の中に保持することが必要であり、その多孔質構造における細孔は平均細孔径が0.65μm以上3μm以下であることが望ましい。尚、非対象限外認過膜を使用する時には、表面側即ち、孔径が大きい側の平均細孔径が0.65μm以上3μm以下であれば差し支えない。また、使用する多孔質膜の膜厚は用途に応じて適宜選択すれば良く、一般的には50μm以上 200μm以下が操作性と強度、柔軟性の面から使用の好適範囲である。

【0008】微生物を多孔質膜に保持するための固定化用担体、即ちゲル化材としては、親水性のゲルを形成するものであればいずれも使用することができるが、例えば、アルギン酸、寒天、ジェランガム、キサンタンガム、ゼラチン、カラギーナン、メチルセルロース、ペクチン、ブルランなどが好適である。次に微生物の固定化30方法について説明する。

【0009】目的の微生物は生育に適切な培地で培養した後、集菌、洗浄を行い、洗浄菌体として使用する。得られた微生物をアルギン酸などのゲル化材の溶液に適宜混合して微生物混合ゲル化材溶液とし、該溶液をアセチルセルロースメンブレンフィルターなどの多孔質膜上に滴下し、多孔質膜の下部から吸引または、上部から加圧して多孔質膜の孔の中に浸潤させ、ゲル化材ごと微生物を固定する。多孔質膜表面に残存する微生物混合ゲル化材溶液が浸潤して多孔質膜中に全て移行するまで吸引もしくは加圧して、微生物混合ゲル化材が多孔質膜中に保持されるようにする。この時の吸引や加圧の強さの程度は、多孔質膜が破損しない程度であれば良い。

【0010】即ち、菌体表面をゲル化材で被覆された微生物を多孔質膜の穴の中に埋め込み、多孔質膜素材と微生物の間にゲル化材を存在せしめ、その後、使用するゲル化材に応じた所定の方法によりゲル化材を固化させることにより微生物を多孔質膜中に固定し、多孔質膜の孔から微生物が脱離することのない優れた微生物固定化膜を製造する。ゲル化材の固化にはカルシウム等の無機塩50 類や、重合材等の固化材でゲル化させたり、冷却して固

3

化させたりする方法等を使用することができる。

【0011】本発明によれば、使用するゲル化計は極少量で良く、ゲル化させる処理時間も短時間で、処理温度も室温程度で充分であるため、微生物を温和な条件で処理でき、従って、使用する微生物に損傷を与えないので、微生物活性が高く維持できる。また酸素、亜硫酸、各種有機化合物、各種無機化合物などの通過性は高く高感度であり、且つ、本発明の微生物固定化膜の一部が破損しても内部からの微生物の漏出は非常にわずかであり、該膜の寿命も今までになく長いという特徴を有する10微生物固定化膜がはじめて得られた。

【0012】次に、本発明の微生物固定化法を使用して、BOD(生物化学的酸素要求量)、並びに、亜硫酸を測定する方法について述べる。本発明者らはこれまで、BODの測定についてはクレブシエラ属(Klebsiella属)に属する微生物を用いる測定方法(特願平3-30769号)、亜硫酸の測定についてはチオバチルス属(Thiobacillus属)に属する微生物を用いる測定方法(特願平3-256814号)を完成し特許出願している。

【0013】上記発明においてBODの測定はクレブシェラ属に属する微生物を固定化した微生物膜と酸素電極を組み合わせて測定する方法であり、亜硫酸の測定はチオバチルス属に属する微生物を固定化した微生物膜と酸素電極を組み合わせて測定する方法であるが、いずれの方法においてもそれぞれ使用する微生物を本発明による微生物固定化方法にて製造した微生物固定化膜とし、酸素電極と組み合わせて行うことで応答性に優れ、高感度な生体素子として使用できる。

[0014]

 \mathcal{L}

【発明の効果】本発明の方法により得られる微生物固定 化膜は、これをBOD又は亜硫酸の測定に使用したとき 感度、応答性、安定性、耐久性において優れた効果が示 され、当該微生物固定化膜を使用して優れたBOD又は 亜硫酸の測定法及び測定装置が提供された。

[0015]

【実施例】以下、本発明を実施例により具体的に説明するが、本発明はこれら実施例によりその技術的範囲が限定されるものではない。

実施例 l クレブシェラ オキシトカ12092 (Klebsiell a oxytocal2092) の固定化

クレブシエラ オキシトカ12092 (FERM 8P-3616)をポリペプトン1%、酵母エキス0.1%塩化ナトリウム0.5%を含む液体培地 10cmlの入った 5ccml容三角フラスコに接種し、30°Cにて24時間好気的条件下で振盪培養を行った。培養終了後培養液を6000rpm で20分間遠心分離して菌体を集めた。得られた菌体に少量の滅菌蒸留水を加えて懸濁し、再度遠心分離して洗浄を行った。この洗浄を3回繰り返し洗浄菌体として150mg (乾重)を得た。

【0016】この洗浄菌体0.4 mq(乾重)相当を、滅菌 した3%アルギン酸ナトリウム水溶液50μ1 に混合し、 平均細孔径0.8 μm のアセチルセルロース膜(ミリボア 社製メンプランフィルタータイプ日本)上に適下し、こ の微生物混合溶液が該膜中に全て保持されるまで膜の下 部より吸引し、浸潤させて該膜中に固定した。該膜を通 過した余剰のアルギン酸水溶液はそのまま膜の下部より 滴下させて除けば良い。次に、この微生物を保持した該 膜を5%塩化カルシウム水溶液 50ml中に室温で10分間浸 漬してアルギン酸を固化させ微生物固定化膜を得た。

実施例2 BODの測定

実施例1で得られた本発明微生物固定化膜を用いてBO D標準液 (JIS-KO102)の測定を行った。図 l に示すよう に酸素電極3とキャップ1の間に微生物固定化膜2を装 着して微生物電極を作成し、図2に示す装置で測定し た。装置の概略は、次の通りである。試料ビン4から採 取されたBOD標準液は、電磁弁5を通りポンプ6を経 て、フローセル7に導かれる。フローセル7中は、モー ター10により撹拌子9で撹拌される。酸素電極3の電極 面にキャップ1で外嵌された微生物固定化膜2から構成 される微生物電極8で検知された値はアンプ部13で増幅 され、記録計14で記録される。測定を終了した試料は廃 液槽11に入る。測定終了後、電磁弁5を切り替えて洗浄 液槽12より洗浄液を通じて洗浄を行う。測定温度は30 ℃、試料流通時間(測定時間)は3分、試料量は10m7で ある。尚、測定に供する試料及び洗浄液に必要に応じて 空気を通気するかまたは、フローセル7に至る経路の途 中で通気しても良い。本装置を使用して各種濃度のBO D標準液を測定した結果、図3に示すようにBODの濃 度とそれに応答する酸素電極の電圧変化量の間にはきわ めて良い直線関係が得られた。また、鹿児島県の食品工 場から採取した廃液について同様の条件でBODを測定 した値を公定法である5日間法による測定値と比較した ところ、本発明微生物固定化膜を使用した測定値は42pp m、5日間法では4Sppmであり良く一致した結果が得ら れた。この結果より、本発明は実際の試料についても充 分利用可能であることがわかった。

実施例3 多孔質膜の平均細孔径の比較

平均細孔径の異なる市販の多孔質膜に、実施例1で得た 微生物菌体を同様の方法で固定化し、実施例2で使用した装置の微生物電極に装着して同様の条件でBOD標準 液を測定した。各種濃度のBOD標準液を測定した結果 を図4、濃度66ppmのBOD標準液を繰り返し測定した 結果を図5に示す。この結果、平均細孔径0.45μmの多 孔質膜で製造した微生物固定化膜では応答が低く、平均 細孔径5μmの多孔質膜で製造した微生物固定化度では 繰り返し測定すると感度が低下して測定できなくなった。平均細孔径0.65μm以上の多孔質膜を使用して製造 した微生物固定化量の間にはきわめて良い直線関係が得 られ、繰り返し測定では平均細孔径3μm以下の多孔質 膜を使用して製造した微生物固定化膜を使用したときに

安定した応答が得られた。これらの結果より、平均細孔 径0.65μm 以上3μm 以下の多孔質膜を使用して製造し た微生物固定化膜を用いたときに高感度で安定性に優れ た測定ができることが明らかである。

実施例4 多孔質膜の比較

多孔質膜の膜厚が 150μm で平均細孔径の異なるアセチ ルセルロース製の多孔質膜に、実施例1で得た微生物菌 体をゲル化材を使用しないで該膜の上部に滴下し浸潤さ せ、該膜下部より吸引して該膜の孔の中にトラップして 微生物固定化膜を製造した。

*固定化膜を製造し、実施例3と同様の条件で測定を行っ た。表1に示すようにゲル化材を使用しないで多孔質膜 中に微生物をトラップした微生物固定化膜は本発明微生 物固定化膜に比べほとんど応答が見られず、微生物が充 分トラップされていないと考えられたので、微生物をト ラップする多孔質膜の膜厚を厚さ 600μm にし、更に、 固定化する微生物量を10倍量の4 mg(乾重)として同様 に固定した。

6

[0018]

【表1】 10

【〇〇17】次に実施例1と同様の方法で本発明微生物*

平均細孔径						本類発明
(µm)	0. 45	0.65	0.8	3. 0	5.0	0.8
BOD標準液 (66ppm) に対 する応答 (ΔaV)	20	60	40	0	0	600

8 μm 以下の多孔質膜を使用した場合は測定ができなか った。これは、測定に際し、試料を流通させる前に洗浄 水を反応槽に流通し、微生物電極の示す初期の酸素濃度 レベル、いわゆるベースラインを求める段階で、すでに

【0019】その結果を表2に示したが、平均細孔径0. 20%んど無酸素の状態を示し、その状態から微生物が各種有 機物を資化する際におこる酸素濃度変化を測定すること が不可能なためである。

> [0020] 【表2】

. 酸素電極の示す表2の電圧値が20から40mVであり、ほと※

平均細孔径						本顧発明
(111) (111) 試料流通時間	0. 45	0.65	0.8	3.0	5. 0	0.8
3分(△=V)	_	_		Q	0	600
30分 (△mV)		. 	_	80	150	測定せず
ペーステイン電圧道 (mV)	20	30	40	200	300	1000

一: 測定不可能

【0021】この状況は、洗浄水および/または試料中 の酸素が該微生物固定化膜中を自由に通過できないこと を示している。また平均細孔径3μm以上の微生物固定 化膜では、ベースラインを示す表2の電圧値は 200から 300mVであり、比較的高い値を示した。しかし、試料流 通時間3分の条件では応答が見られず、試料流通時間30 分でわずかに応答が得られたに過ぎなかった。これらに 比べ本発明微生物固定化膜はベースラインを示す電圧値 は1000mVと高く、かつ試料流通時間も3分で応答が得ら れ、迅速な測定ができることがわかる。従って、本発明 による微生物固定化膜は応答に優れるばかりでなく迅速 50 に対して、600mV の応答が得られたが、ポリアクリルア

40 な測定もできることが明らかである 固定化法の比較 実施例5

> 実施例1で得られた微生物を同様の方法で固定化して得 られた本発明微生物固定化膜と、実施例1で得られた微 生物の同一菌体量を、10重量%アクリルアミド溶液に混 合し、常法によりゲル化し膜厚 200μm のポリアクリル アミド固定化微生物膜を製造した。これらの微生物固定 化膜を実施例2の装置に装着しBOD標準液の測定を行 った。その結果、図6に示すように本発明微生物固定化 膜(A)は試料流通時間3分で濃度 66ppmのBOD溶液

ミド固定化微生物膜(B)では応答が得られず、試料流通時間を30分とした時に濃度66ppmのBOD溶液に対して、15cmvの応答が得られた。この様に、本発明微生物固定化膜による測定では応答性と迅速性が明らかに優れていることがわかる。また、ボリアクリルアミド固定化微生物膜は酸素電極に装着する際に強く装着すると破損することがあり、注意を要した。

実施例6 亜硫酸の測定

チオバチルス チオオキシダンス20294 (Thiobacillus thiooxdans20294) (FERM BP-3467) を下記の組成を含む 10 滅菌した培地50m1の入った 200m1容三角フラスコに接種し、30°Cにて4日間振とう培養を行った。この培養液2 m1を同じ培地100m1 を入れた 300m1容エーレンマイヤーフラスコに無菌的に接種し、30°Cにて10日間振とう培養を行った。培養終了後、培養液を東洋濾紙製 No.5 c 濾紙を用いて濾過し、イオウ粉末を除去した。得られた違液中の菌体量は0.4 q 乾燥菌体/し培養液であった。 培地組成

イオウ粉末	1.0%
K₄ HPO₄	0.05%
Ca(NO ₂) ₂ · 4H ₂ 0	0.001%
(NE ₄) ₂ SO ₄	0.3%
KC1	0.01%
MgSO ₄ - 7H ₂ 0	0.05%

蒸留水に以上成分を混合する

pH 6.5

得られた菌体を11000rpmで15分間遠心分離し、集菌した。集めた菌体を少量の冷蒸留水で懸濁し再度、遠心分離を行い菌体を洗浄する操作を2回繰り返して洗浄菌体を得た。洗浄菌体0.4 mg (乾重)を3%アルギン酸ナト 30リウム溶液50μ1に混合し、実施例1と同様にして多孔質膜 (平均細孔径0.8 μm) に固定した。

【0022】 この微生物固定化膜を図7に示した亜硫酸 測定電極に装着して図2のフローセル装置で測定した。図7は酸素電極15とガス透過性膜16、緩衝液 (0.1 Mクエン酸ナトリウムー水酸化ナトリウム pH 5) 17及び微生物固定化膜18よりなる。試料としては各種濃度の亜硫酸水素ナトリウム溶液 (5 m 硫酸酸性溶液 pH 2) を用いた。図8に示すように亜硫酸濃度とそれに応答する酸素電極の電圧変化量の間にはきわめて良い直線関係が得られた。また、本発明者等が既に完成し、特許出願している方法 (特願平3-256814) に従って製造した微生物固定化膜を使用して亜硫酸を測定した結果と、本発明の微生物固定化膜を使用して亜硫酸を測定した結果と、本発明の微生物固定化膜を使用して亜硫酸を測定した結果とを比較した所、本発明による微生物固定化膜は同じ濃度の亜硫酸に対する電圧変化量が大きく、より高感度な測定ができた。

実施例7 限外濾過膜を使用した固定化

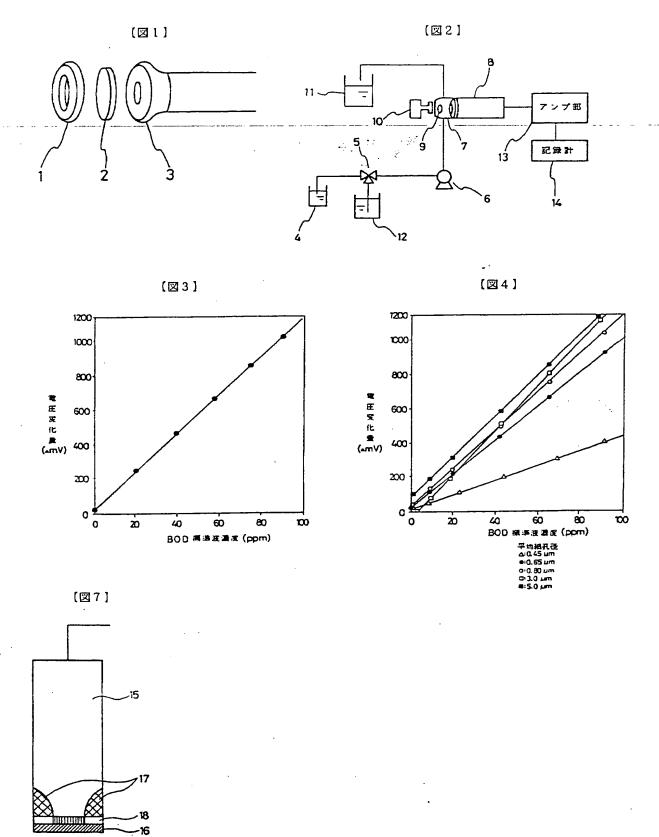
非対称限外濾過膜(フジフィルター社製フィルトロン限 外濾過膜オメガメンブレン)を使用し、実施例1で得ら れた微生物菌体を同様の方法で固定化し、固定化微生物 膜を得た。これを実施例2で使用した装置に装着し、B O D 標準液を測定した。図9に示すようにBOD 標準液 の濃度とそれに応答する酸素電極の電圧変化量の間には 極めて良好な直線関係が得られ、かつ感度も高いことが わかった。

0 【図面の簡単な説明】

- 【図1】本発明の微生物電極を示す図である。
- 【図2】BODの測定装置を示す図である。
- [図3]図2に示す装置を用いて各種濃度のBOD標準液を測定した結果を示す図である。
- 【図4】平均細孔径の異なる多孔質膜を用い、図2に示す装置を用いて各種濃度のBOD標準液を測定した結果を示す図である。
- (図5)平均細孔径の異なる多孔質膜を用い、図2に示す装置を用いて各種濃度のBOD標準液を測定した結果 20 を示す図である。
 - 【図 6】本発明の微生物固定化膜とポリアクリルアミド をそれぞれ用いて応答感度を比較した図を示す。
 - 【図7】微生物固定化膜を装着した亜硫酸測定電極を示す図である。
 - 【図8】各種濃度の亜硫酸水素ナトリウム溶液を測定した結果を示す図である。
 - 【図9】非対称限外濾過膜を使用した微生物固定化膜で各種濃度のBOD標準液を測定した結果を示す図である。

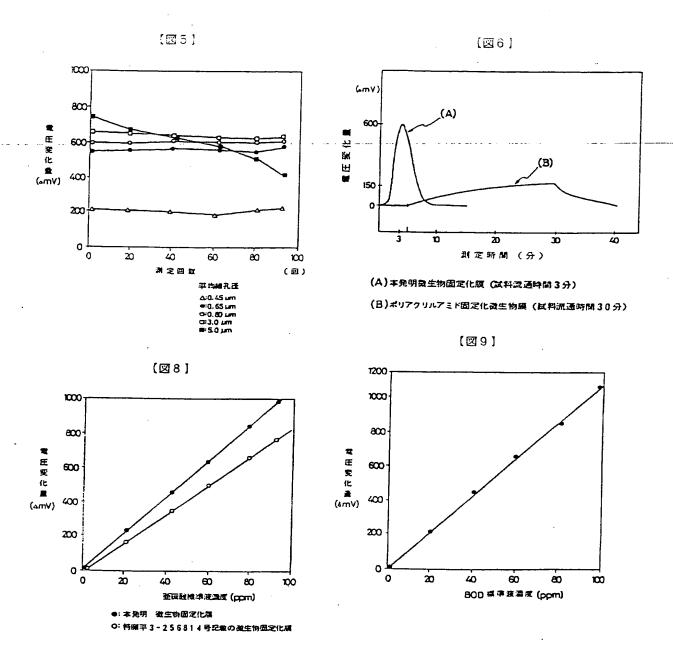
30 【符号の説明】

- 1 キャップ
- 2,18 微生物固定化膜
- 3.15 酸素電極
- 4 試料ビン
- 5 電磁弁
- 6 ポンプ
- 7 フローセル
- 8 微生物電極
- 9 攪拌子
- 40 10 モーター
 - 11 廃液槽
 - 12 冼净液槽
 - 13 アンプ部
 - 14 記録計
 - 16 ガス透過性膜
 - 17 緩衝液



\

7



(51) Int.C1.		識別記号	庁内整理番号	FI	技術表示箇所
GOIN	27/416				
	27/49				
	33/18	105	9015-2J		

7235 – 2 J

フロントページの続き

G01N 27/46

306